

Staphylococcus aureus törzsek összehasonlító elemzése molekuláris mikrobiológiai módszerekkel

Peles Ferenc¹ – Martin Wagner² – Keresztúri Péter¹ – Béri Béla³ – Szabó András¹

¹ Debreceni Egyetem Agrártudományi Centrum, Mezőgazdaságtudományi Kar, Élelmiszerfeldolgozás, Minőségvizsgálat és Mikrobiológiai Tanszék, Debrecen

² Bécsi Állatorvosi Egyetem, Tejhigiéniái, Tejtechnológiai és Élelmiszertudományi Intézet, Bécs, Ausztria

³ Debreceni Egyetem Agrártudományi Centrum, Állattenyésztéstudományi Tanszék, Debrecen
pelesf@agr.unideb.hu

Kulcsszavak: nyers tej, *Staphylococcus aureus* szám, enterotoxinok, pulzáló erőterű gélelektroforézis, antibiotikum rezisztencia

Keywords: raw milk, *Staphylococcus aureus* count, enterotoxins, pulsed-field gel electrophoresis, antibiotic resistance

ÖSSZEFOGLALÁS

A *Staphylococcus aureus*, a tejtermelő és feldolgozó üzemek számára nagy jelentőséggel bír. A szubklinikai tőgygyulladások jelentős részét ez a baktérium okozza és a fejés során az elegytejbe is bekerülhet. Egyes típusai a hőstabil enterotoxin (SE) termelés eredményeként élelmiszermérgezést idézhetnek elő.

A vizsgálat célja az volt, hogy meghatározzuk két tejtermelő gazdaság elegytejében a *S. aureus* szám alakulását, továbbá a különféle mintákból (elegytejből, tőgygyulladásban szenvedő állatok tőgynegyedtejből és a környezetből) izolált *S. aureus* törzsek enterotoxin termelő képességét, genetikai rokonságát (pulzotípus) és antibiotikum érzékenységét.

Az eredmények azt mutatták, hogy a két gazdaság elegytejének az átlag *S. aureus* száma szignifikánsan különbözött ($P < 0,05$) egymástól. Az epidemiológiai vizsgálatok elvégzéséhez tizennégy *S. aureus* izolátumot (elegytejből ötöt, tőgynegyedtejből kilencet) választottunk ki. A környezeti minták vizsgálata során nem fordult elő *S. aureus* által szennyezett minta. Az enterotoxin termelő képesség meghatározása során azt tapasztaltuk, hogy a tizennégy izolátum közül három (21,4%) hordozott SE gént. Két izolátum egy gént (*seb*), egy izolátum pedig két gént is hordozott (*seg* és *sei*). A tizennégy izolátum, a genetikai rokonsági kapcsolat vizsgálata alapján, három pulzotípusba és két altípusba volt sorolható 86%-os azonossági szint esetén. Az elegytejeből származó izolátumokat ($n=5$) két pulzotípusba (A, C) és egy altípusba (C1) lehetett elkülöníteni. A beteg állatok tőgynegyedtejből származó izolátumok ($n=9$) három pulzotípusba (A, B, C) és két altípusba (A1, C1) tartoztak. Az előforduló pulzotípusok elemzése során azt tapasztaltuk, hogy genetikai kapcsolat van az elegytejben és a tőgynegyedtejben talált *S. aureus* izolátumok között. Ez arra utal, hogy azokban a gazdaságokban, ahol nagyszámú szubklinikai tőgygyulladásban szenvedő állat fordul elő, az elegytej *S. aureus* baktériummal történő szennyeződésének fő forrásai a fertőzött tőgynegyedek. Az antibiotikum rezisztencia vizsgálat során azt az eredményt kaptuk, hogy a vizsgálatokba bevont összes törzs érzékeny volt a methicillinre, cefoxitinre, lincomycinre, tetracyclinre, erythromycinre és sulfamethoxazole/trimethoprimre. A tizennégy törzs közül tizenhárom (A és C pulzotípus, A1 és C1 altípus) volt penicillin rezisztens és csak egy volt érzékeny (B pulzotípus) az összes antibiotikummal szemben.

SUMMARY

Staphylococcus aureus is a very important pathogen for dairy farms and milk processing plants. Subclinical mastitis is often caused by this species, and it can contaminate bulk tank milk when milking cows suffering from mastitis. Additionally thermostable enterotoxins (SE) produced by some types of this bacterium can cause food poisoning.

The aim of our research was to examine the number of *S. aureus* in bulk tank milk in two dairy farms and the enterotoxin-producing ability, genetic relation (pulsotype) and antibiotic resistance of *S. aureus* strains from different sources (bulk tank milk, udder quarter milk and environment).

The results show that the mean number of *S. aureus* of bulk tank milk of two farms significantly differed ($P < 0.05$). Fourteen isolates were selected for further molecular genetic studies (five isolates were from bulk tank milk and nine isolates were from udder quarter milk). *S. aureus* was not recovered from the environmental samples. Three of the fourteen isolates (21.4%) tested by multiplex PCR were positive for SE genes. Two isolates carried one gene (*seb*) and one isolate carried two genes (*seg* and *sei*). The fourteen strains were classified into three pulsotypes and two subtypes at 86% similarity level. Isolates from bulk tank milk ($n=5$), were divided into 2 pulsotypes (A, C) and one subtype (C1). The isolates from udder quarter milk ($n=9$) belonged to three different pulsotypes (A, B, C) and two subtypes (A1, C1). The distribution of pulsotypes in the present study revealed genetic relationship between *S. aureus* isolated from udder quarter milk and bulk tank milk. This could be explained by the fact that in farms with a high number of infected cows, these cows could represent the main source of contamination. The results of the antibiotic resistance investigations show, that all strains were susceptible to methicillin, cefoxitin, lincomycin, tetracycline, erythromycin and sulfamethoxazole/trimethoprim. Thirteen out of fourteen strains were resistant to penicillin (A and C pulsotypes, A1 and C1 subtypes) and just one isolate was susceptible (B pulsotype) to all antibiotics tested.

BEVEZETÉS

A *Staphylococcus aureus*, a tejtermelő és feldolgozó üzemek számára nagy jelentőséggel bír. A szubklinikai tőgygyulladások jelentős részét ez a baktérium okozza és a fejés során az elegytejbe is bekerülhet. Egyes típusai hőstabil enterotoxinokat (SE) termelnek, melynek eredményeként ételmérgezőséget idézhetnek elő.

A staphylococcusok Gram-pozitív, gömb alakú baktériumok (kokkusok). Jól alkalmazkodó, igen elterjedt baktériumok, amit az is alátámaszt, hogy megtalálhatók az emberek és az állatok bőrén, a felső légutakban, a nemi szervek és a húgyutak nyálkahártyáján, az emésztőcsatornában, a levegőben, a porban, a szennyvízben, a természetes vizekben, a talajban, a tejben, a húspan és más élelmiszerekben. Az emberek és az állatok az elsődleges hordozók. A staphylococcusok jelen vannak az orrüregben és a garatban és az egészséges egyéneknél a hajon és a bőrfelületen is (Tuboly, 1998).

A nyers tej számos humán fertőzés forrása lehet. Számos olyan ételmérgezős megbetegedést írtak már le amit mikroorganizmusokkal fertőzött nyers tej, pasztörizált tej vagy tejtermékek idéztek elő (MacDonald et al., 1985; Bryant et al., 1988; Maguire et al., 1992).

A *S. aureus* növekedési melléktermékként különféle hőstabil enterotoxinokat is termelhet (Orwin et al., 2001; Letertre et al., 2003), ami által ételmérgezőséget idézhet elő (Balaban and Rasooly, 2000; Dinges et al., 2000). Az ételmérgezés esetén a tünetek (hányinger, hányás, hasmenés) hamar jelentkeznek (Jablonski és Bohach, 1997).

A *S. aureus* világszerte nagyon gyakran okoz tőgygyulladást a tejelő marháknál (Cardoso et al., 1999; Akineden et al., 2001; Stephan et al., 2001) és az egyik fő szennyezője a nyers tejnek (Asperger, 1994). A szennyeződés lehet endogén eredetű, amikor a fertőzött állat tőgyéből fejés során kerül a tejbe (Bryan, 1983); illetve exogén eredetű, amely esetben fertőzött személyek vagy a környezet idézi elő (Brisabois et al., 1997). A tej bakteriális szennyeződésének forrása lehet a szubklinikai tőgygyulladásban szenvedő teheneken kívül a piszkos tőgy és a nem megfelelő tisztaságú fejőberendezés is (Thomas et al., 1966; Hogan et al., 1989).

Néhány eltérő méretű, valamint különféle tartás és fejéstechnológiát alkalmazó Hajdú-Bihar megyei tejtermelő gazdaság elegytejében, a *S. aureus* szám alakulását korábbi munkánk során már publikáltuk (Peles et al., 2006).

A vizsgálat célja az volt, hogy meghatározzuk két tejtermelő gazdaság elegytejében a *S. aureus* szám alakulását, továbbá a különféle mintákból (elegytejből, tőgygyulladásban szenvedő állatok tőgynegyedtejéből és a környezetből) izolált *S. aureus* törzsek enterotoxin termelő képességét, genetikai rokonságát (pulzotípus) és antibiotikum érzékenységét.

ANYAG ÉS MÓDSZER

A vizsgálatokba bevont gazdaságok

A vizsgálatokba két (G1, G2) Hajdú-Bihar megyei tejtermelő gazdaságot vontunk be. A gazdaságok elegytejének a *S. aureus* számát 2005. június és 2006. augusztus között négy alkalommal határoztuk meg (2005. nyár, 2005. ősz, 2005-06. tél, 2006. nyár). A gazdaságok kérésére, a gazdaságok azonosítására szolgáló adatokat (név, cím, azonosító kód) nem publikáltuk. Mind a két gazdaságban kötetlen mélyalmos tartásmódot és fejőházi fejést alkalmaznak, az éves termelt tejmennyiség pedig egy millió liter felett van.

Bakteriológiai vizsgálatok

A gazdaságok elegytejéből, a tőgygyulladásban szenvedő állatok tőgynegyedtejéből, valamint a fejőberendezés különböző felületeiről is gyűjtöttünk mintákat. A bakteriológiai vizsgálatokat a Debreceni Egyetem ATC Mezőgazdasági Mikrobiológiai Laboratóriumában, az epidemiológiai vizsgálatokat pedig Bécsben az Állatorvosi Egyetem Tejhigieniai, Tejtechnológiai és Élelmiszertudományi Intézetében végeztük.

Az elegytej mintákat a fejés befejezése után, kb. 10-15 perces keverés után vettük steril körülmények között (steril és zárható edénybe). Az elegytej *S. aureus* számának a meghatározásához az **MSZ EN ISO 6888 – 1:99** nemzetközi szabványt használtuk. A szabványt követve tojássárgája tellurit emulzióval kiegészített Baird Parker agart használtunk, a megerősítő vizsgálatokat pedig koaguláz próbával végeztük. Az elegytejek *S. aureus* számának az értékelése az **1/2003. (I. 8.) FVM-ESzCsM** együttes rendelete alapján történt.

A fejőberendezés és a tejgyűjtő tartály fejés előtti tisztaságának a vizsgálata (mosás hatékonysága) céljából, steril mintavételi tamponnal közvetlenül a fejés megkezdése előtt mintákat gyűjtöttünk a tejjel érintkező felületekről (a fejőgumik, a tejgyűjtő tartályok és a tartály kivezető csövek felülete) valamint a fejőház csempejéről.

A beteg állatok tőgynegyedeiből származó tejmintákban, valamint a felületekről gyűjtött tamponmintákban esetlegesen előforduló *S. aureus* meghatározásához Columbia véres agart és Baird Parker agart használtunk. A megerősítő vizsgálatokhoz koaguláz próbát alkalmaztunk.

Az epidemiológiai vizsgálatok elvégzéséhez elegytejből öt, tőgynegyedtejéből kilenc *S. aureus* izolátumot választottunk ki, melyeket a 2006. évi januári vizsgálatok során gyűjtöttünk.

Az adatok statisztikai elemzését GraphPad Prism 3.02 (**Motulsky, 1999**) programmal végeztük.

Staphylococcus enterotoxin (SE) gének meghatározása

Multiplex PCR vizsgálati módszer segítségével a *sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *seg*, *see*, *sei*, *sej* Staphylococcus enterotoxin (SE) gének és a toxikus sokk toxin gén (*tst*) előfordulását vizsgáltuk a *S. aureus* izolátumokban. A DNS amplifikáció 30 ciklusban (95°C-on 60 mp-ig, 55°C-on 60 mp-ig és 72°C-on 60 mp-ig) történt. Az utolsó ciklus után egy 72°C-os 10 perces végső szakasz következett. Az amplifikáció kivitelezéséhez automata, programozható GeneAmp PCR System 9700 készüléket és Platinum Taq DNS polimerázt (Invitrogen) használtunk. A PCR termékeket 1,5%-os agaróz gélen történő elektroforézist követően, etidium bromiddal megfestettük és UV fény alatt fotóztuk.

Pulzáló erőterű gélelektroforézis

Az izolátumok kromoszomális DNS-ének a makrorestrikciós analízisét SmaI restrikciós enzim segítségével végeztük. A makrorestrikciós DNS fragmentumok elválasztásához 1%-os SeaKem Gold agaróz gél és CHEF DR III készüléket használtunk. Futtatás után a gél etidium bromiddal megfestettük és UV fény alatt fotóztuk. Markerként XbaI-el emésztett Salmonella braenderup H9812 törzset alkalmaztunk. Az izolátumok fragmentumainak az analízise és a dendrogram készítés Fingerprinting II v.3.0 szoftver segítségével történt. Az izolátumokat 100%-os azonosság szint esetén genetikailag azonosnak (azonos pulzotípus), 86-99%-os azonosság esetén közeli rokonoknak (altípus), 86% alatt pedig különböző pulzotípusnak tekintettük. A különböző pulzotípusokat nagy betűkkel, az altípusokat pedig nagy betűvel és arab számmal jelöltük.

Antibiotikum rezisztencia vizsgálat

Az antibiotikum rezisztencia vizsgálatokat Mueller-Hinton agaron korongdiffúziós módszerrel végeztük. Az alábbi antibiotikum korongokat használtuk: penicillin (P, 10 unit), methicillin (MET, 5µg), cefoxitin (FOX, 30µg), lincomycin (MY, 15µg), tetracycline (TE, 30µg), erythromycin (E, 15µg) és sulfamethoxazole/trimethoprim (SXT, 25µg).

EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

A *S. aureus* szám alakulása az elegytejben

A G1 gazdaság elegytejében a *S. aureus* szám 4.1×10^2 és 2.1×10^3 Cfu ml⁻¹ között, a G2 gazdaság elegytejében pedig 1.9×10^2 és 3.4×10^2 Cfu ml⁻¹ között alakult. Az egyes mintavételi időpontokban, a G2 gazdaságban kisebb volt az eredmények szórása, mint a G1 gazdaság esetén. Az átlag *S. aureus* szám alacsony volt ($<5.0 \times 10^2$) a G2 és közepes (5.0×10^2 - 2.0×10^3) a G1 gazdaság elegytejében (1. ábra). A két gazdaság elegytejében az átlag *S. aureus* száma szignifikánsan különbözött ($P < 0,05$) egymástól.

1. ábra: A *S. aureus* szám alakulása a gazdaságok elegytejében

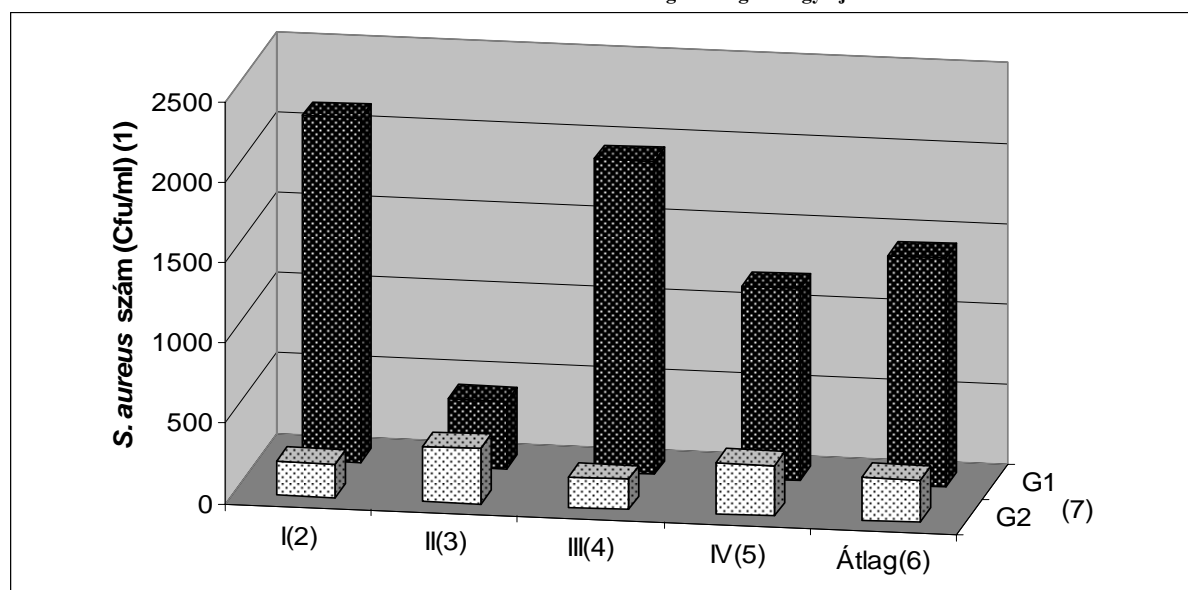


Figure 1: *S. aureus* counts in bulk tank milk of farms

S. aureus count(1), I:2005 summer(2), II:2005 autumn(3), III:2005-06 winter(4), IV:2006 summer(5), mean(6), farms(7)

Az epidemiológiai vizsgálatok elvégzéséhez tizennégy *S. aureus* izolátumot (elegytejből ötöt, tögynegyedtejből kilencet) választottunk ki. A felületekről gyűjtött minták vizsgálata során nem fordult elő *S. aureus* által szennyezett minta.

Enterotoxin gének előfordulása

A tizennégy izolátum közül három (21,4%) hordozott SE gént. Két izolátum csak egy gént (*seb*), egy izolátum pedig két gént is hordozott (*seg* és *sei*). Egyik törzs sem rendelkezett *sea*, *sec*, *sed*, *see*, *seh*, *sej* vagy *tst* génnel. A két gazdaság közül csak a G2 gazdaságban találtunk enterotoxin-termelő törzset. A *seb* gén két izolátumban, a *seg+sei* gének pedig egy izolátumban voltak jelen (1. táblázat).

1. táblázat

Az epidemiológiai vizsgálatok eredményei					
Gazdaságok(1)	Izolátumok száma(2)	Izolátumok eredete(3)	Pulzotípusok(4)	Rezisztencia(5)	Enterotoxin(6)
G1	34	Elegytej(7)	A	Penicillinre rezisztens(9)	-
	35	Elegytej	A	Penicillinre rezisztens	-
	37	Tögynegyedtej(8)	A	Penicillinre rezisztens	-
	38	Tögynegyedtej	A	Penicillinre rezisztens	-
	41	Tögynegyedtej	A1	Penicillinre rezisztens	-
	43	Tögynegyedtej	A	Penicillinre rezisztens	-
	47	Tögynegyedtej	A1	Penicillinre rezisztens	-
	48	Tögynegyedtej	B	érzékeny	-
G2	21	Elegytej	C	Penicillinre rezisztens	-
	22	Elegytej	C1	Penicillinre rezisztens	<i>seb</i>
	23	Elegytej	C1	Penicillinre rezisztens	<i>seb</i>
	26	Tögynegyedtej	C	Penicillinre rezisztens	<i>seg+sei</i>
	28	Tögynegyedtej	C	Penicillinre rezisztens	-
	30	Tögynegyedtej	A	Penicillinre rezisztens	-

Table 1: Results of the epidemiology investigations

Farms(1), number of isolates(2), origin of isolates(3), pulsotypes(4), resistance(5), enterotoxins(6), bulk tank milk(7), udder quarter milk(8), penicillin-resistant(9)

Pulzáló erőterű gélelektroforézis

Az izolátum makrorestrikciós fragmentumainak az elemzése alapján, a vizsgált tizennégy izolátum három pulzotípusba és két altípusba volt sorolható 86%-os azonossági szint esetén, melyeket dendrogramon is ábrázoltuk (2. ábra). Az elegytejeből származó izolátumokat (n=5) két pulzotípusba (A, C) és egy altípusba (C1) lehetett elkülöníteni. A beteg állatok tögynegyedtejből származó izolátumok (n=9) három pulzotípusba (A, B, C) és két altípusba (A1, C1) tartoztak. Az egyes gazdaságokban maximum két különféle pulzotípus fordult elő, ami az egyes farmokon belüli kismértékű genetikai különbségre utal (1. táblázat).

Az előforduló pulzotípusok elemzése során azt tapasztaltuk, hogy genetikai kapcsolat van az elegytejben és a tögynegyedtejből talált *S. aureus* izolátumok között. Ez arra utal, hogy azokban a gazdaságokban, ahol nagyszámú szubklinikai tüdőgyulladásban szenvedő állat fordul elő, az elegytej *S. aureus* baktériummal történő szennyeződésének fő forrásai a fertőzött tögygyógyedek. A szennyeződés elkerülése legfőképpen a tüdőgyógybeteg állatok tejének az elkülönítésével érhető el.

Antibiotikum rezisztencia

A vizsgálatokba bevont összes törzs érzékeny volt a methicillinre, cefoxitinre, lincomycinre, tetracyclinre, erythromycinre és sulfamethoxazole/trimethoprimre. A tizennégy törzs közül tizenhárom (A és C pulzotípus, A1 és C1 altípus) volt penicillin rezisztens és csak egy volt érzékeny (B pulzotípus) az összes antibiotikummal szemben (1. táblázat).

2. ábra: A *S. aureus* izolátumok közötti azonossági szintet bemutató dendrogram

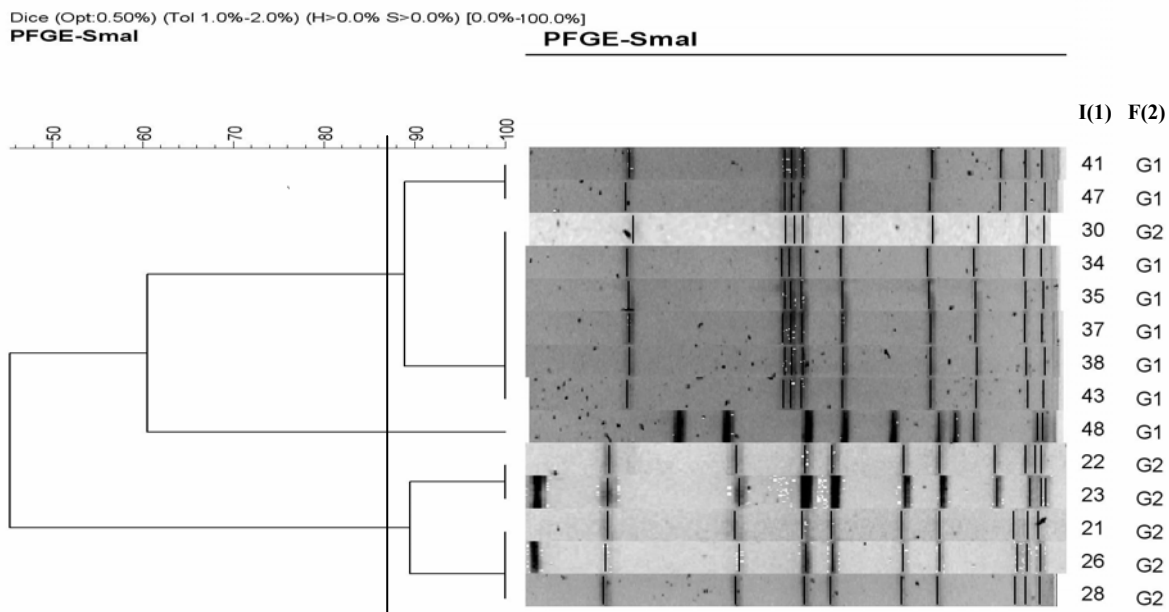


Figure 2: Dendrogram showing the level of similarity between the *S. aureus* isolates.
I: Isolates(1), F: farms(2)

KÖVETKEZTETÉSEK

A két gazdaság elegytejében az átlag *S. aureus* szám annak ellenére, hogy mindkét gazdaságban hasonló volt az üzemméret, a tartásmód és a fejéstechnológia is, szignifikánsan különbözött ($P < 0,05$) egymástól. Az epidemiológiai vizsgálatok elvégzéséhez tizennégy *S. aureus* izolátumot (elegytejből ötöt, tögynegyedtejből kilencet) választottunk ki. A mosás után, de még a fejés megkezdése előtt vett felületi minták vizsgálata során nem fordult elő *S. aureus* által szennyezett minta, ami a megfelelő tisztításra vezethető vissza.

Az enterotoxin termelő képesség meghatározása során azt tapasztaltuk, hogy a tizennégy izolátum közül három (21,4%) hordozott SE gént. Két izolátum csak egy gént (*seb*), egy izolátum pedig két gént is hordozott (*seg* és *sei*).

A tizennégy izolátum, a genetikai rokonsági kapcsolat vizsgálata alapján, három pulzotípusba és két altípusba volt sorolható 86%-os azonossági szint esetén. Az elegytejeből származó izolátumokat ($n=5$) két pulzotípusba (A, C) és egy altípusba (C1) lehetett elkülöníteni. A beteg állatok tögynegyedtejből származó izolátumok ($n=9$) három pulzotípusba (A, B, C) és két altípusba (A1, C1) tartoztak. Az egyes gazdaságokban maximum két különféle pulzotípus fordult elő, ami az egyes farmokon belüli kismértékű genetikai különbségre utal. Az előforduló pulzotípusok elemzése során azt tapasztaltuk, hogy genetikai kapcsolat van az elegytejben és a tögynegyedtejből talált *S. aureus* izolátumok között. Ez arra utal, hogy azokban a gazdaságokban, ahol nagyszámú szubklinikai tögygyulladásban szenvedő állat fordul elő, az elegytej *S. aureus* baktériummal történő szennyeződésének fő forrásai a fertőzött tögynegyedek.

Az antibiotikum rezisztencia vizsgálat során azt az eredményt kaptuk, hogy a tizennégy törzs közül tizenhárom volt penicillinre rezisztens, ami a gazdaságok nagymértékű antibiotikum használatával magyarázható.

KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS

A cikkben bemutatott saját eredmények az Osztrák-Magyar Akció Alapítvány és a Bécsi Állatorvosi Egyetem, Tejhigiéni, Tejtechnológiai és Élelmiszertudományi Intézet támogatásával valósultak meg. Köszönettel tartozok a két gazdaság vezetőinek és dolgozóinak a segítőkész közreműködésükért, továbbá Petra Riecknek és Klaus Gutsernek az epidemiológiai vizsgálatokban, Ingeborg Heinnak és Kardos Gábornak pedig a statisztikai elemzésekhez nyújtott szakmai segítségéért.

- Akineden, O.-Annemuller, C.-Hassan, A.A.-Lammler, C.-Wolter, W.-Zschock, M. (2001): Toxin genes and other characteristics of *Staphylococcus aureus* isolated from milk cows with mastitis. Clin. Diagn. Lab. Immunol., 5. 959–964.
- Asperger, H. (1994): *Staphylococcus aureus*. In: Monograph on the significance of pathogenic microorganisms in raw milk by IDF group of experts A10/11 – bacteriological quality of raw milk, IDF, Brussels, Belgium, 24-42.
- Balaban, N.-Rasooly, A. (2000): Review: Staphylococcal enterotoxins. International Journal of Food Microbiology., 61. 1–10.
- Brisabois, A.-Lafarge, V.-Brouillaud, A.-De Buyser, M.L.-Collette, C.-Garin-Bastuji, B.-Thorel, M.F. (1997): Les germes pathogènes dans le lait et les produits laitiers: situation en France et en Europe. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz., 16. 452-471.
- Bryan, F.L. (1983): Epidemiology of milk-borne diseases. J. Food Prot., 46. 637-649.
- Bryant, R.G.-Jarvis, J.-Guibert, G. (1988): Selective enterotoxin production by a *Staphylococcus aureus* strain implicated in a foodborne outbreak. J. Food Prot., 51. 130-131.
- Cardoso, H.F.T.-Silva, N.-Sena, M.J. (1999): Production of enterotoxins and toxic shock syndrome toxin by *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in Brazil. Letters Appl. Microbiol., 29. 347-349.
- Dinges, M.M.-Orwin, P.-Schlievert, P.M. (2000): Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. Clin Microbiol Rev., 13. 16–34.
- FVM - ESZCSM együttes rendelete 1/2003. (I. 8.): Rendelet a nyers tej és a tejalapú termékek előállításának, forgalomba hozatalának élelmiszer-higiéniai feltételeiről.- Magyar Közlöny. 2003/2. szám. 59-89.
- Hogan, J.S.-Smith, K.L.-Hoblet, K.H.-Todhunter, D.A.-Schoenberger, P.S.-Hueston, W.D.-Pritchard, D.E.-Bowman, G.L.-Heider, L.E.-Brockett, B.L.-Conrad, H.R. (1989): Bacterial counts in bedding used on nine commercial dairies. J. Dairy Sci., 72. 250–258.
- Jablonski, L.M.-Bohach, G.A. (1997): *Staphylococcus aureus*. In: Doyle M P, Beuchat L P, Montville T J., editors. Food microbiology: fundamentals and frontiers. Washington, D.C: ASM Press., 353–375.
- Letertre, C.-Perelle, S.-Dilasser, F.-Fach, P. (2003): A strategy based on 5' nuclease multiplex PCR to detect enterotoxin genes *sea* to *sej* of *Staphylococcus aureus*. Mol Cell Probes, 17. 227-235.
- MacDonald, K.L.-Eidson, H.I.-Strohmeyer, C.-Levy, M.E.-Wells, J.G.-Puh, N.D.-Wachsmuth, K.-Hargrett, N.T.-Cohen, M.L. (1985): A multistate outbreak of gastrointestinal illness caused by enterotoxigenic *Escherichia coli* in imported semisoft cheese. J. Infect. Dis., 151. 716-720.
- Maguire, H.-Cowden, J.-Jacob, M.-Rowe, B.-Roberts, D.-Bruce, J.-Mitchell, E. (1992): An outbreak of Salmonella dublin infection in England and Wales associated with a soft unpasteurised cows' milk cheese. Epidemiol. Infect., 109. 389-396.
- Motulsky, H.J. (1999): Analyzing Data with GraphPad Prism. GraphPad Software Inc., San Diego CA, www.graphpad.com.
- MSZ EN ISO 6888-1:2000. Élelmiszerek és takarmányok mikrobiológiája. Horizontális módszer a koagulázpozitív staphylococcus-ok (*Staphylococcus aureus* és más fajok) számának meghatározására. 1. rész: Baird-Parker-agar táptalajt alkalmazó eljárás.
- Orwin, P.M.-Leung, D.Y.-Donahue, H.L.-Novick, R.P.-Schlievert, P.M. (2001): Biochemical and biological properties of Staphylococcal enterotoxin K. Infect Immun., 69. 360–366.
- Peles, F.-Keresztúri, P.-Iglói A.-Szabó A. (2006): The effect of environmental factors on the microbiological quality of bulk tank milk. Cereal Research Communications., 34. 1. 755-758.
- Stephan, R.-Annemüller, C.-Hassan, A.-Lämmler, Ch. (2001): Characterization of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine mastitis in North East Switzerland. Veterinary Microbiology, 373-382.
- Thomas, S.B.-Druce, R.G.-King, K.P. (1966): The microflora of poorly cleansed farm dairy equipment. J. Appl. Bact., 29. 409–422.
- Tuboly S. (1998): Állatorvosi járványtan I. (Állatorvosi mikrobiológia). Mezőgazda Kiadó, Budapest. 612.